

蓖麻蚕氨基酸-tRNA 合成酶与丝心蛋白合成的关系

王小玉 许廷森

(中国科学院上海生物化学研究所)

前 言

蓖麻蚕 *Philosamia cynthia ricini* 后部丝腺体在五龄后期主要合成一种蛋白质——丝心蛋白。在组成丝心蛋白的氨基酸成分中,丙氨酸和甘氨酸占了 78%,其中丙氨酸的含量比甘氨酸高 (Kirimura 等 1962)。已经知道在五龄期,蓖麻蚕后部丝腺体 tRNA 含量与丝心蛋白的氨基酸成分之间存在着相关性 (辜祥荣等, 1981)。在生物体内,氨基酸必须与其相应的 tRNA 结合才能参与蛋白质的合成,而两者的结合反应是由其相应的氨基酸-tRNA 合成酶所催化的。本文测定了五龄期蓖麻蚕后部丝腺体中甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶的活力,以及这两个酶的 K_m 值,观察到在五龄期,这两个酶的活力是随着蛋白质合成的增加而升高的,而且并没有同功酶或酶的变构产生。

实验材料和方法

(一) 蓖麻蚕品种为白黄, 25℃ 饲养。

(二) 氨基酸-tRNA 合成酶的提取 以蓖麻蚕的后部丝腺体作为材料,基本按 Kawakami (1973) 的方法提取。与其方法不同之处在于超速离心后,取 30—80% 的硫酸铵饱和沉淀组分,以及上 DEAE-Sephadex A-50 柱后的蛋白峰,对含有 40% (V/V) 甘油的 Tris-HCl 缓冲液 (0.02M pH 7.5) 透析,其中含有 0.005M $MgCl_2$, 0.025M KCl , 0.006M 巯基乙醇。透析后测活力。

(三) tRNA 的提取 以蓖麻蚕后部丝腺体作为材料,按照 Kawakami (1973) 的方法制备。

(四) 氨酰化反应 总体积 50 微升,内含 $1A_{260}$ tRNA, 酶液稀释一定倍数,反应时间为 10 分钟,按辜祥荣(1981)的方法测定。

结 果 与 讨 论

一、五龄期蓖麻蚕后部丝腺体内甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶活力的变化

我们测定了五龄期蓖麻蚕后部丝腺体中甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶的活力。从图 1 中可看到,在五龄初期,即在蚕的生长阶段,蓖麻蚕后部丝腺体的甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶的活力都很低,与丝心蛋白的氨基酸成分没有相关性。五龄三天以后,丝心蛋白开始合成,随着蛋白质合成速率的增加,氨基酸-tRNA 合成酶活力也相应地升高,并且丙氨酸-tRNA 合成酶活力高于甘氨酸-tRNA 合成酶活力,而在五龄末期,蛋白质合成速率降低,氨基酸-tRNA 合成酶的活力也相应降低。在家蚕 *Bombyx mori* 后部丝腺体中,Charancy 等 (1975) 也观察到类似的现象。他提出在家蚕后部丝腺体中,氨基酸-tRNA 合成酶与丝心蛋白的氨基酸成分存在着相关性。我们的实验结果表明,在蓖麻蚕中可能也存在着这种相关性。

二、甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶的 K_m 值

本文于 1982 年 2 月收到。

本文工作由广东省蚕种繁殖实验场提供实验用蚕,谨此致谢。

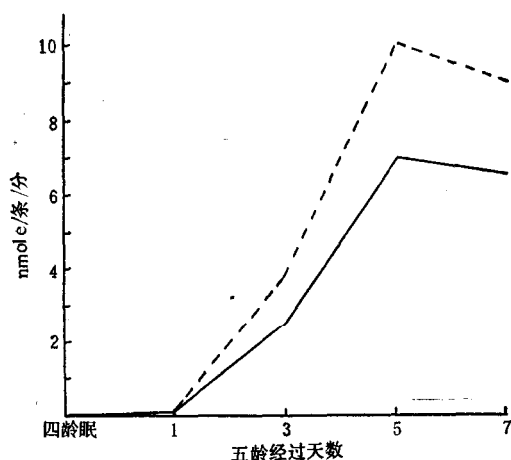


图1 五龄期蓖麻蚕后部丝腺体中两种合成酶活力的变化
 ----丙氨酸-tRNA 合成酶 ——甘氨酸-tRNA 合成酶

为了说明在五龄后期氨基酸-tRNA 合成酶活力的升高, 是否与产生了相应的同功酶或酶的变构有关, 我们测定了五龄期甘氨酸-tRNA 合成酶和丙氨酸-tRNA 合成酶的 K_m 值。结果见表1。从表中可看到, 在整个五龄期, 氨基酸-tRNA 合成酶的 K_m 值保持不变, 说明没有同功酶的产生, 也没有发生酶

表1 氨基酸-tRNA 合成酶的 K_m 值

Km 值 M ⁻¹ 龄 期		甘氨酸-tRNA 合成酶	丙氨酸-tRNA 合成酶
四龄眠*		1.63±0.2	5.105±0.1
五龄第一天*		1.65±0.3	5.21±0.15
第三天**		1.59±0.03	5.297±0.3
第五天**		1.54±0.06	5.28±0.8
第七天**		1.49±0.07	5.56±0.6

* 为两个 K_m 值的平均值 ** 为三个 K_m 值的平均值

在构象上的变化。Chavancy 等(1975)测定家蚕后部丝腺体这两个氨基酸-tRNA 合成酶的 K_m 值, 也观察到类似的现象。五龄后期酶活力的升高, 可能是由于早期合成的氨基酸-tRNA 合成酶原在五龄后期激活成具有活性的酶的缘故。

尽管家蚕和蓖麻蚕属于昆虫不同的科, 并且所合成的丝心蛋白的氨基酸成分差别很大 (Kirimura 等, 1962), 但它们的丝心蛋白的氨基酸成分与 tRNA 量及氨基酸-tRNA 合成酶活力之间却都存在着相关性。

参 考 文 献

- 辜祥荣等 1981 蓖麻蚕后部丝腺体核酸及丝蛋白含量的变化。昆虫学报 24(4):349—55。
 Chavancy, G., et al. 1975 Functional adaptation of aminoacyl-tRNA synthetases to fibroin biosynthesis in the silk gland of *Bombyx mori* L. FEBS Letters 49 (3): 380—4.
 Kawakami, M., et al. 1973 Fractionation of glycine, alanine and serine transfer ribonucleic acids from the silk gland. J. Biochem. 74: 33—40.
 Kirimura, J., et al. 1962 Studies on amino acid composition of silk protein by microbiological determination. J. Agr. Chem. Soc. 36: 336—40.

**THE RELATIONSHIP BETWEEN AMINOACYL-tRNA SYNTHETASES
AND FIBROIN BIOSYNTHESIS IN THE SILKWORM
*PHILOSAMIA CYNTHIA RICINI***

WANG XIAO-YU XU TING-SEN

(Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica)